Aus der Chirurgischen Universitätsklinik in Marburg
Direktor: Professor Dr. Klapp.

Experimentelle Untersuchungen über die Beziehungen des Lactoflavins zu akuten Infektionen und zur Regeneration

INAUGURAL-DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DES DOKTORGRADES
IN DER GESAMTEN MEDIZIN
DER HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER PHILIPPS-UNIVERSITÄT MARBURG

vorgelegt von

HANS BENDER
aus Rüsselsheim/Main

MARBURG-LAHN 1938
BUCHDRUCKEREI HERMANN BAUER

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg-Lahn
am 17. Dezember 1937.

Referent: Dozent Dr. med. habil. Lauber.
Korreferent: Professor Dr. Klapp.
Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Die Bedeutung der Vitamine für die Infektionen und für die Regeneration steht heute fest. Bieling[1] gebührt das Verdienst, bereits vor zehn Jahren die Wichtigkeit der Vitamine für die Infektionsabwehr erkannt und im Tierexperiment deutlich gemacht zu haben. Er konnte nachweisen, daß qualitativ und quantitativ unterernährte Tiere, d. h. einmal bei ungenügender Vitaminzufuhr, zum anderen bei überhaupt zu geringer Nahrungsmenge, einer Infektion schneller erlagen. Pfannenstiel und seine Mitarbeiter waren es vor allem, die diese wichtige Rolle der Vitamine bei der Abwehr von Infektionen weiter experimentell untersuchten und in wesentlichen Forschungsergebnissen klärten. So berichtet Holsen[2], daß durch Zulage von Vitamin D zur Nahrung bei Kaninchen die Bakterizidie des Blutes erhöht wird. Gleichzeitige Verabreichung von Vitamin B-Komplex und Vitamin D ließ außer der Wirkung der Blutbakterizidieerhöhung auch eine entgiftende Wirkung des Vitamin B Komplexes auf die D-Hypervitaminose erkennen. Für die antagonistische Wirkung des Vitamin B Komplexes gegen Intoxikationserscheinungen von einer Hypervitaminose D sind die Untersuchungen von Jusatz und Wenzel[3] von Wichtigkeit. Die Feststellungen von Holsen konnten durch Jusatz und Wenzel dahingehend erweitert werden: Der Ausbruch einer Hypervitaminose D äußert sich durch eine Hyperphosphatämie. Diese kann durch gleichzeitige Verabreichung großer Mengen Vitamin B Komplex verzögert werden und in weiteren Stadien eine Abschwächung erfahren. In einer anderen Arbeit geht Jusatz[4] darauf ein, daß durch Vitaminmangel eine erhöhte Anfälligkeit des Menschen gegenüber Infektionen zu konstatieren ist. Ferner wird berichtet, daß die zuvor erwähnten günstigen Ergebnisse von Holsen für das Vitamin D, sowie für die Vitaminkombination B-Komplex plus D, in einer Reihe weiterer Untersuchungen bestätigt werden konnten. Die Wirkung des Vitamins A gegen Infektionen hängt nach Untersuchungen von Jusatz und anderen mit der Einwirkung auf das Epithelgewebe zusammen. Die Blutbakterizidie wird durch Vitamin A nicht erhöht. Eine besondere Bedeutung für die Aufrechterhaltung der Widerstandskraft gegen Infektionen kommt dem Vitamin C zu. Pfannenstiel[5] geht in einer Uebersicht auf die Einwirkung der Vitamine auf die Infektionen ein. Seine Feststellungen decken sich im Wesentlichen mit dem zuvor Gesagten und den im Folgenden zu besprechenden Untersuchungsergebnissen von Lauber. Lauber[6] verabfolgte in seinen ersten Versuchen Vitamin A und Vitamin D in therapeutischen Dosen, sowie in hundertfacher Ueberdosierung. Es wurden Mäusen die Vitamine einmal in Form

einer Vorbehandlung, anderen Serien als Behandlung post infectionem zugeführt. Die Vitamine B und C mußten dabei damals mit der Nahrung als Bierhefe (B) und als Zitronensaft (C) verabfolgt werden. Es wurden Infektionen mit Staphylokokken, Streptokokken und Pneumokokken gesetzt. Der Erfolg sprach im Ergebnis deutlich im Sinne einer erhöhten Infektionsabwehr nur für das Vitamin A, das sowohl als Vorbehandlung, wie auch als Behandlung günstige Wirkung erkennen ließ. Ohne sichtbaren Erfolg blieben die Vitamine B und C. Geringen Einfluß zeigte das Vitamin D, das als Vorbehandlung eine etwas erhöhte Infektionsabwehr erkennen ließ, nicht dagegen als Behandlung. In neueren Untersuchungen hat Lauber[7] diese Ergebnisse für das Vitamin B_1 und D bestätigen können; für das Vitamin C wurde ein guter Erfolg auf die Infektionen nachgewiesen. Die Mäuseserien bekamen, wieder einmal als Vorbehandlung, zum anderen als Behandlung, die Vitamine in verschieden großen Dosen zugeführt, und zwar: Vogan-Vitamin A-Konzentrat in drei Dosen, α Carotin-Provitamin A in zwei Dosen, Cebion-Vitamin C in drei Dosen, Vigantol-Vitamin D in drei Dosen. Die Infektionen wurden intraperitoneal mit Streptokokken gesetzt. Die Ergebnisse waren für das Vitamin A-Konzentrat, sowohl als Vorbehandlung, wie auch als Behandlung, sehr günstig. Das Provitamin A ließ nurmehr als Vorbehandlung in großen Dosen einen wesentlichen Erfolg erkennen. Vom Vitamin B_1 war keine besondere Wirkung auf die Infektionen zu sehen. Das Vitamin C leistete, vor allem in großen Dosen, sowohl als Behandlung, wie auch als Vorbehandlung, sehr Gutes bei der Infektionsabwehr. Der Erfolg des Vitamins D war in den Versuchen sehr gering. — Auch zum Regenerationsproblem hat Lauber[8] größere Untersuchungen vorgenommen. Experimente an Ratten zeigten die Beziehungen der Vitamine zur Wundheilung auf. Die Tiere bekamen Vitamin A und D in drei verschiedenen Dosen peroral, die Vitamine B und C, ebenfalls in drei verschiedenen Dosen, parenteral verabfolgt. Im Verlauf der Untersuchungen konnte lediglich vom Vitamin A ein guter Erfolg gesehen werden. Und zwar wurde die Wundheilung nur durch Verabfolgung von kleinen Dosen des Vitamins A beschleunigt, während von mittleren Dosen kein Erfolg, von großen Dosen sogar eine Verzögerung der Heilung gesehen wurde. Bestätigt wurden die Versuchsergebnisse durch andere Experimente, bei denen die Vitamine in Form von Salben verabreicht wurden. — In der gleichen Arbeit berichtet Lauber auch über Versuche an Meerschweinchen, an denen der Einfluß der Vitamine auf die Knochenregeneration festgestellt wurde. Zu diesem Zweck wurden bei den Tieren gleichgroße Stücke der Fibula reseziert und dann die verschiedenen Vitamine neben einer sonst normalen Ernährung in drei unterschiedlichen Dosen zugeführt. Die Untersuchungen ergaben für das Vitamin A eine Verzögerung der Knochenregeneration, die zum Teil sogar recht erheblich war. Das Vitamin B_1 beeinflußte die Regeneration außerordentlich günstig,

ohne daß die Dosierung eine wesentliche Rolle spielte. Das Vitamin C zeigte in geringen Dosen keinen Einfluß, machte dagegen in großen Dosen eine hochgradige Störung der Regeneration. Das Vitamin D, in Form des Vigantols, ließ bei geringer Dosierung eine mässige Verzögerung, bei hohen Dosen eine schwere Störung der Callusbildung erkennen. Die Vitaminkombinationen A plus B, A plus C und A plus D machten schwerwiegende Störung der Regeneration. Die Kombinationen der Vitamine B plus C und B plus D ließen eine Verzögerung der Callusbildung erkennen. Letzteres Ergebnis steht in einem Gegensatz zu den Beobachtungen von Schotte[9], der von dem Vitamin B und D haltigen Präparat „pro Ossa" Gutes für die Knochenregeneration sah. Von der Vitaminkombination C plus D, in geringer Dosis verabfolgt, konnte Lauber unter Einwirkung der Sonne sehr gute Resultate für die Knochenregeneration feststellen.

Aufgabe dieser Arbeit soll es sein, die Beziehungen des Lactoflavins zu akuten Infektionen, zur Wundheilung und zur Knochenregeneration im Tierexperiment zu untersuchen. Es wird damit an die im Vorhergehenden kurz erwähnten Untersuchungen über andere Vitamine in ihrer Bedeutung für diese biologischen Vorgänge angeschlossen.

Im Folgenden soll auf die Chemie und Physiologie des Vitamins B_2, insbesondere des Lactoflavins, in Kürze näher eingegangen werden. — Im Jahre 1933 berichteten Ellinger und Koschara[10] über die Entdeckung gelbgrün fluoreszierender Farbstoffe, deren Darstellung in kristallisiertem Zustand aus Molke gelungen war. Zu gleicher Zeit, sogar in der gleichen Zeitschrift zwei Seiten später, gaben Kuhn, György und Wagner-Jauregg[11] bekannt, daß es ihnen möglich war, einen neuen gelben Farbstoff, mit grüner Fluoreszenz, aus Hühnerei zu kristallisieren; er wurde mit dem Namen „Ovoflavin" benannt. Die Autoren wiesen auf den Zusammenhang hin, der zwischen der Verbreitung des Vitamins B_2 und diesen gelben, grün fluoreszierenden Farbstoffen, Flavine benannt, bestehe. Von tierischen Organen erwiesen sich reich an Vitamin B_2 und an solchen Farbstoffen Leber, Herz und Niere; Kuhmilch enthielt das Doppelte von Frauenmilch. An Pflanzen zeigten Spinat, Tomaten und Hefe großen Gehalt an Flavinen. Der Farbstoff war lichtempfindlich, thermostabil und wasserlöslich, unlöslich in Aether, Petroläther und Benzin. Kuhn, György und Wagner-Jauregg[12] wiesen in einer weiteren Arbeit auf die Gleichheit zwischen Lactoflavin und Ovoflavin hin. Die wahrscheinliche Bruttoformel dieses Farbstoffes wurde mit $C_{17}\ H_{20}\ N_4\ O_6$ angegeben. Diese Formel besitzt nach Auhagen[13] auch heute noch volle Gültigkeit für das Lactoflavin. Kuhn, Rudy und Wagner-Jauregg[14] gaben dann eine neue Methode zur Gewinnung reinsten Lactoflavins an. György, Kuhn und Wagner-Jauregg[15] veröffentlichten in einer nächsten Arbeit als Testmethode für das Vitamin B_2 das Wachstum und die Allgemeinentwicklung. Als Einheit des Vitamins wurde die Menge angegeben,

die bei B_2 frei ernährten Ratten eine Gewichtszunahme von 10 g zwei bis vier Wochen lang erzeugt. Außerdem berichteten genannte Autoren, daß man durch Reinigung des Lactoflavins zu einem Farbstoff gekommen sei, der in Beziehung zum Atmungsferment von Warburg stehe. Wir wissen heute, daß das Lactoflavin eine Gewichtszunahme von täglich 4 g bei der Ratte bei einer Lactoflavintagesdosis von 4 γ zu bewirken vermag, wenn dazu noch ein Faktor, oder Faktorenkomplex hinzutritt, der an sich unwirksam ist. Der Farbstoff stellt also nur eine Komponente des Vitamins B_2 dar. Später wurden ähnliche Farbstoffe auch aus anderen Organen gewonnen. Je nach ihrer Herkunft bezeichnete man sie als: Hepaflavin, Maltoflavin, Uroflavin usw. Was Kuhn und Wagner-Jauregg[16] für das Hepaflavin angaben, gilt auch für die meisten anderen Flavine: Sie sind in den Organen hochmolekular gebunden. Und zwar finden sie sich, wie Silberschmidt[17] angibt, im Verband des gelben Oxydationsfermentes. Dieses ist als ein Komplex aus Lactoflavinphosphorsäure und Eiweiß anzusehen. Die Fermentwirkung, die durch einen dieser beiden Faktoren allein nicht ausgelöst werden kann, tritt sofort nach Vereinigung der beiden wieder auf. Die verschiedenen Flavine erwiesen sich untereinander soweit gleich, daß ihre Identität wahrscheinlich ist, ihre Verschiedenheit wohl nur durch Verunreinigungen vorgetäuscht wurde. Man bezeichnet daher alle diese gelben Naturfarbstoffe, gleich welcher Herkunft, als „Lactoflavin". Zwei Jahre nach der Reingewinnung konnten Kuhn und Weygand[18] berichten, daß ihnen die synthetische Darstellung eines Farbstoffes der Lactoflavingruppe gelungen war. Er besaß im Tierexperiment die gleiche Wachstumswirkung wie das natürliche Lactoflavin.

Zur Synthese des Lactoflavins ist der Tierorganismus nicht befähigt. Er ist also auf die Zufuhr von außen angewiesen. Benötigt wird der Farbstoff zum Aufbau des gelben Oxydationsfermentes, das bereits oben erwähnt ist. Wahrscheinlich wird das Lactoflavin der Nahrung im Dünndarm phosphoryliert und als Phosphorsäureester resorbiert. Am Bestimmungsort findet dann die Koppelung mit Eiweiß unter Bildung des Fermentes statt. Die Untersuchungen von Vivanco[19] ergaben, daß der Organismus das Bestreben hat, bei fehlender Flavinzufuhr durch Retention und Drosselung der Ausscheidung einen Ausgleich zu schaffen. Vivanco zeigte im Tierversuch, daß die normale Flavintagesausscheidung für die Ratte 3 bis 5 γ beträgt. Wurden die Tiere frei von Lactoflavin ernährt, so stieg die Gewichtskurve so lange, als noch eine Flavinausscheidung im Harn und Kot stattfand. Mit Aufhören der Ausscheidung sistierte das Wachstum, später fiel dann auch die Gewichtskurve ab. Neben dem Wachstumsstillstand ist also das Fehlen der Flavinausscheidung Zeichen der Avitaminose B_2. Nach zweimonatlicher B_2 freier Ernährung war der Flavingehalt in Leber, Niere und Herz nur noch 30% der Norm. Auf das Flavinspeicherungsvermögen beim gesunden Tier weist von Drigalski[20] hin.

Die biologische Bedeutung des Vitamins B_2 ist bis heute wenig geklärt. Die meisten Versuche sind nicht mit dem einheitlichen Lactoflavin, sondern mit B_2 Konzentraten, vor allem aus Hefe, vorgenommen worden. Im Folgenden werden also mehr die Mangelerscheinungen, die zahlreiche Autoren berichten, weniger die therapeutischen Erfolge von Interesse sein. Klemola und Hohlweg[21] wiesen Veränderungen der Epidermis, Abschuppung und verzögertes Haarwachstum, sowie Wachstumsstillstand bei Vitamin B_2 Mangel nach. Abels[22] sah bei mit einer B-Mangelkost ernährten Ratten Veränderungen, die der menschlichen Pellagra ähnelten. Rolnik[23] nimmt als Aetiologie der Menschenpellagra eine Avitaminose an, die aber nur Individuen mit herabgesetzter Widerstandsfähigkeit befällt. Der asthenische Typus, Unterernährung und Blutarmut werden als besonders disponierend genannt. Im Tierversuch erzielte von Drigalski[20] durch einen protrahierten Vitamin B_2 Mangel bei Ratten Pellagra. Durch Sonne oder Höhensonne wurde das Krankheitsbild nicht verändert. Ueber Läsionen des Zentralnervensystems bei Hunden, denen das Vitamin B_2 ganz oder teilweise entzogen war, berichten Zimmermann und Burack.[24] Sie konnten ausgedehnte Degenerationen und Gefäßneubildungen im Bereich des Kleinhirnkerns und der substantia gelatinosa des Rückenmarkes feststellen. In einem Fall sahen sie auch Degenerationen des Goll'schen Stranges im Rückenmark. In späteren Untersuchungen über Vitamin B_2 Mangel bei Hunden konnten Gowgill, Zimmermann und Burack[25] diese Resultate bestätigen und erweitern. Es kam in den neuen Experimenten nach 30 bis 60 Tagen zu Haarausfall, Brechen und Durchfall. Nach fünf Monaten wurde Myelinverarmung der peripheren Nerven und des Vagus, sowie degenerative Strangveränderungen, besonders der Hinterstränge des Rückenmarkes, beobachtet. Gemäß diesen der menschlichen Pellagra analogen Erscheinungen nehmen genannte Autoren an, daß das Vitamin B_2 als beteiligter Faktor bei der Entwicklung der Pellagra anzusehen sei. An der Entstehung der Stomatitis und Glossitis des Bildes der „schwarzen Zunge" sei B_2 offenbar nicht beteiligt. György[26] wies in neueren Untersuchungen nach, daß weder Vitamin B_1, noch B_2 einen Einfluß auf die sogenannte Rattenpellagra haben. Er gab B_2 frei ernährten Ratten außer B_1 und Lactoflavin einen als B_6 bezeichneten Faktor und konnte damit einen guten Erfolg erzielen; die Tiere bekamen keine Dermatitis und zeigten gutes Wachstum. Jeder der verabfolgten Faktoren gab für sich allein keine Wirkung. In wieder neuen Untersuchungen zeigten Birch, György und Harris[27] durch vergleichende Experimente an Hunden und anderen Tieren, daß das Vitamin B_6 nicht als Antipellagrafaktor zu gelten haben kann. Denn das Vitamin erwies sich weder mit dem die menschliche Pellagra verhütenden P. P. Faktor, noch mit dem Stoff, der beim Hund die „schwarze Zunge" verhütet, identisch. Demnach ist auch die durch Vitamin B_6 Mangel hervorgerufene Rattendermatitis keine Pellagra. Störungen des Kohlehydratstoffwechsels, bei

Taube und Hund durch Vitamin B Mangel hervorgerufen, konnten, wie Collazo und Pi-Suner-Bayo[28] berichten, durch Vitamin B_2 Zuführung behoben werden. Stepp und Schröder[29] wiesen nach, daß das Lactoflavin den Blutzuckerspiegel beim Diabetiker senkt, nicht dagegen beim Gesunden. Die Rolle des Vitamins B_2 für den Kohlehydratstoffwechsel im Organismus und die mögliche Bedeutung für die Therapie des Diabetes ist damit erwiesen. Als weitere Vitamin B_2 Mangelerscheinungen sind nach den Beobachtungen von Stepp[30] Veränderungen des Verdauungstraktes zu beachten. Und zwar kommt es zu geschwürigen Veränderungen an der Mundschleimhaut, zu Colitis ulcerosa und zu Fettdiarrhoe. Kagawa[31] beobachtete Schwellung des Mundwinkelepithels, blutige Rhagadenbildung, sowie Schwellung und Rötung der Zunge, die auf Zuführung von Vitamin B Präparaten zurückgingen. Katarakt und eitrige Lidentzündungen, eitrige Konjunktivitiden, sowie interstitielle Keratitiden beobachteten im Rattenversuch bei etwa 60 Tage anhaltenden Vitamin B_2 Mangel Day, Langston und O'Brien.[32] Nach Zugabe von Vitamin B_2 wurde ein Rückgang der Erscheinungen nicht gesehen. Bei der Lepra nimmt Basu[33] nach Untersuchungen der Kost Leprakranker Vitamin B_2 Mangel als aetiologischen Faktor an. Bei der Lepra anaesthetica war durch Hefepräparate eine leichte Besserung zu erzielen, nicht dagegen bei der Lepra tuberosa. Die Störungen der Fortpflanzung bei B_2 Avitaminose führt Anselmino[34] auf eine hypophysäre Störung zurück. Die Erscheinungen, Unterbrechung der Ovarialfunktion beim Rattenweibchen, Erlöschen des Sexualtriebes beim Männchen, konnten durch Vorderlappeninjektionen zum Verschwinden gebracht werden. In der Hypophyse dieser Tiere war ein Fehlen des gonadotropen Hormons zu konstatieren.

Zum Schluß sei noch auf die verschiedenen Beobachtungen einzelner Autoren über Vitamin B und Infektionen eingegangen. Frank[35] schreibt dem „Antipellagra-Vitamin", also wohl dem Vitamin B_2, auf die Infektionsabwehr eine Wirkung zu. Roß und Robertson[36] berichten über Rattenversuche mit Vitamin B frei ernährten Tieren und solchen, die 6% Trockenhefe als Zugabe erhielten. Die Ratten wurden mit Salmonella enteritidis per os infiziert. Von den B frei ernährten Tieren gingen 81% ein, von den Heferatten nur 25%. Durch die Beigabe von Hefe wurde also die Resistenz bedeutend erhöht. Lassen[37] sah bei Tieren, die mit Vitamin B freier Kost ernährt waren, nur eine geringe Herabsetzung der Resistenz gegen Infektionen. Nur bei ganz extremem Vitamin B Mangel näherte sich die Herabsetzung der bei Xerophtalmie zu beobachtenden. Reiner und Paton[38] wollen sogar eine Erhöhung der Resistenz gegen Infektionen bei Vitamin B frei ernährten Tieren gegenüber Normaltieren gesehen haben. Rominger[39] gibt an, daß durch große Gaben von Vitamin B die Resistenz gegen Staphylokokkenerkrankungen erhöht wird. Die günstige Wirkung der Hefe könne allerdings nach seiner Ansicht sowohl aus der Vitamin B

Wirkung, als auch aus der Veränderung der Darmflora durch die Hefe resultieren.

Zusammenfassend kann wohl gesagt werden, daß die biologischen Versuchsergebnisse der einzelnen Autoren für das Vitamin B_2 und seine Bedeutung kein sehr klares Bild ergeben. Zum Teil mag das wohl daran liegen, daß, wie schon einmal gesagt wurde, das Lactoflavin als Therapeuticum nur in den seltensten Fällen angewandt werden konnte; offenbar stand es bei den meisten Versuchen nicht zur Verfügung. Lediglich die chemischen und physikalischen Eigenschaften, die von den Entdeckern klar herausgearbeitet wurden, weiter die sichere Wachstumswirkung, die Ausscheidung durch Harn und Kot, endlich die Einwirkung auf den Kohlehydratstoffwechsel stehen für das Lactoflavin sicher fest. Die Bedeutung des Lactoflavins insbesondere für das Problem der Infektion und Regeneration konnte in den Angaben der Literatur nirgends erwähnt gefunden werden.

Aufgabe dieser Arbeit soll es sein, im Anschluß an die gleichartigen Untersuchungen über andere Vitamine nun auch über die Beziehungen des Lactoflavins zu akuten Infektionen, zur Wundheilung und zur Knochenregeneration, die in eigenen Tierexperimenten erforscht wurden, zu berichten. Wenden wir uns nunmehr also den eigenen Experimenten zu, die im Folgenden in Verlauf und Ergebnis Gegenstand der Betrachtung sein sollen.

Zunächst soll auf die Technik der Tierversuche eingegangen werden. 100 etwa vier Monate alte Mäuse wurden in Serien zu je 10 Stück in Holzkästen zusammengesetzt. Die Böden der Kästen waren mit Torfmull angefüllt. Als Aufenthaltsraum diente der geheizte Tierstall der chirurgischen Klinik. Der Stall, ein Backsteinbau, ist auf einer Seite mit Fenstern versehen. Die Mäuse waren auf der den Fenstern gegenüberliegenden Seite untergebracht, erhielten somit mäßig viel Tageslicht. An Nahrung bekamen je 10 Mäuse in 24 Stunden etwa 25 ccm rohe Kuhmilch und 30 g trockenes Weißbrot. In der Zeit von Mitte Dezember 1936 bis Mitte Januar 1937 wurden an diesen Tieren die Untersuchungen über die Beziehungen des Lactoflavins zu akuten Infektionen und zur Wundheilung vorgenommen. — Zu den Tierexperimenten, in denen die Bedeutung des Lactoflavins für die Knochenregeneration erprobt wurde, standen 15 etwa gleichaltrige Kaninchen zur Verfügung. Sie waren in Holzställen untergebracht und zwar jeweils in jedem Stall ein Tier oder ein gleichgeschlechtliches Paar. Die Ställe standen im Freien und waren nach vorne durch Drahtnetztüren abgeschlossen. Die Tiere erhielten also reichlich Tageslicht. Die Nahrung der Kaninchen bestand aus Rüben, Schwarz- und Weißbrot, sowie aus Heu.

Das Lactoflavin wurde von Hoffmann — la Roche, Berlin, freundlicherweise als Festsubstanz, zu je 2 mg in Glasröhrchen, überlassen. Um den Einfluß irgendwelcher Salze zu vermeiden,

wurde der gelbe Farbstoff in Leitfähigkeitswasser gelöst. Und zwar wurden 20 ccm Leitfähigkeitswasser, in sterilem Meßzylinder abgemessen, mit 2 mg Lactoflavin gemischt. Diese Mischung wurde dann in einen sterilen Erlenmeyer-Kolben gegeben, der zum Schutz gegen Lichteinwirkung mit schwarzem, lichtdichtem Papier umgeben war. Anschließend wurde der Kolben mit seinem Inhalt geschüttelt und 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen lassen, um so das Lactoflavin im Leitfähigkeitswasser zur Lösung zu bringen. Diese Lösung, im Folgenden mit A bezeichnet, enthielt also im Kubikzentimeter 100 γ Lactoflavin, in 0,1 ccm demgemäß 10 γ Lactoflavin. — Von dieser Lösung A wurde in steriler Pipette 0,5 ccm entnommen und die zu 49,5 ccm Leitfähigkeitswasser gegeben. Auf diese Weise war eine verdünnte Lösung, im Folgenden mit B bezeichnet, hergestellt worden; sie enthielt in 50 ccm Flüssigkeit 50 γ Lactoflavin. In 0,1 ccm der Lösung befand sich 0,1 γ Lactoflavin.

Für die Untersuchungen über die Beziehungen des Lactoflavins zu akuter Infektion stellten die Behringwerke freundlicherweise Streptokokkenkulturen vom Stamm SK_2 zur Verfügung.[1] Von einer gut angegangenen Streptokokken-Bouillon wurde eine Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellt, im Verhältnis 1:50. Auf 50 ccm physiologischer Kochsalzlösung kam 1 ccm Streptokokken-Bouillon. In Vorversuchen wurde festgestellt, daß für Mäuse 0,3 ccm dieser Streptokokken-Kochsalzlösung-Verdünnung, intraperitoneal gespritzt, der tödlichen Dosis entsprach. Die Tiere gingen daran nach 3 bis 6 Tagen ein.

Um den Einfluß des Lactoflavins auf die Wundheilung experimentell festzustellen, wurden bei Mäusen Wunden gesetzt. Dazu wurde bei jedem Tier das Rückenfell mit einer Pinzette abgehoben; dann wurde mittels einer Schere mit gekrümmten Branchen jeweils ein etwa kreisrundes Stück von durchschnittlich 8 mm Durchmesser von Rückenfell und Rückenhaut abgetragen. Die Wunden wurden offen der Heilung überlassen.

Die Fotokontrolle der Mäuse mit Wunden wurde mit einer Leica-Kamera vorgenommen. Ein Vorsatzgerät ermöglichte es, die Aufnahmen alle in gleichem Abstand vorzunehmen; und zwar wurden die Fotos im Verhältnis 1:1 von Objekt zu Bild, also in natürlicher Größe gemacht.

Zur Feststellung der Lactoflavinwirkung auf die Knochenregeneration mußten bei Kaninchen Knochenresektionen vorgenommen werden. Es wurde dabei nach dem Verfahren von Burkhart vorgegangen. Nach Durchtrennung der Weichteile wurden jeweils aus dem linken Radius etwa gleichgroße Stücke ausgesägt, die eine

---

1) Herrn Dr. Scholz (Behring-Werke) sage ich für seine freundliche Unterstützung meinen Dank.

Dicke von 1 bis 1,5 mm hatten. Die Wunden wurden mit einer fortlaufenden Naht verschlossen.

Nun soll Verlauf und Ergebnis der tierexperimentellen Untersuchungen geschildert werden. Die Hälfte der zur Verfügung stehenden Mäuse, also 50 Stück, wurden zu den Versuchen verwandt, die den Einfluß des Lactoflavins auf die akute Infektion dartun sollten. Und zwar wurden diese Tiere in Serien zu je 10 Stück eingeteilt, im Folgenden mit 1, 2, 3, 4 und K_1 bezeichnet. Serie 1 wurde vom 4. bis 13. 12. 1936 mit einer Tagesdosis von 0,1 γ Lactoflavin je Tier, in Form von 0,1 ccm der Lösung B, intramuskulär gespritzt, zehn Tage lang vorbehandelt. Die Mäuse erhielten also während der Vorbehandlung eine Gesamtmenge von 1 γ Lactoflavin je Tier. Serie 2 wurde mit einer Lactoflavintagesdosis von 10 γ je Maus zehn Tage lang vorbehandelt; hier wurde jeweils 0,1 ccm der Lösung A als Einzeldosis intramuskulär injiziert. Die einzelnen Tiere dieser Serie erhielten somit eine Gesamtmenge von 100 γ Lactoflavin während der Vorbehandlung. Die Mäuse der Serie 3 erhielten vom Tage der Infektion ab 0,1 γ Lactoflavin je Tier und Tag als Behandlung. Die Serie 4 wurde vom gleichen Zeitpunkt an mit 10 γ Lactoflavintagesdosis je Maus behandelt. Die fünfte Serie von 10 Tieren lief ohne Lactoflavingaben als Kontrollserie, mit K_1 bezeichnet, im Versuch mit. — Am 15. 12. 1936 wurde bei allen diesen 50 Tieren die Infektion gesetzt. Jedes einzelne Tier bekam die erprobte tödliche Dosis von 0,3 ccm der Streptokokken-Kochsalzlösung-Verdünnung intraperitoneal gespritzt. Das Ergebnis war folgendes: Am 1. Tag gingen von Serie 1 und Serie 2 je zwei an und für sich schwache Tiere ein. Am 2. Tag starben von den Serien 1, 2, 3 und 4 je drei, von der Kontrollserie K_1 vier Mäuse. Am 3. Tag verendeten von Serie 1 ein, von Serie 3 vier, von Serie 4 drei und von Serie K_1 zwei Tiere. Am 4. Tag gingen von Serie 2 zwei von Serie 4 ein und von Serie K_1 zwei Tiere ein. Am 5. Tag starben von Serie 2 zwei Mäuse, von Serie 3, 4 und K_1 je eine. Am 6. Tag verendeten von Serie 1 zwei Tiere, von Serie 2 und 3 je eins. Am 7. Tag post infectionem ergab sich also folgendes Bild: Von den Serien 1 und 4 lebten noch je zwei Tiere; eines von 4 ging allerdings im Laufe des Tages ein. Von den Serien 3 und K_1 lebte noch je ein Tier. Die 10 Mäuse der Serie 2 waren alle ad exitum gekommen. Am 10. Tag ging das vorletzte, am 18. Tag das letzte Tier von Serie 1 zugrunde. Die zehnte Maus von Serie 4 verendete am 20. Tag. Von Serie 3 und von der Kontrollserie K_1 blieb je ein Tier am Leben. — Bei allen verendeten Tieren wurde eine Leichenöffnung vorgenommen. In keinem der Fälle konnte ein Anhaltspunkt dafür gefunden werden, daß eine andere Ursache, als die Streptokokkeninfektion den Tod bewirkt hatte. — Zusammengefaßt ergibt sich, daß im Durchschnitt sowohl die mit Lactoflavin vorbehandelten, als auch die mit Lactoflavin behandelten Tiere zu gleicher Zeit und in gleicher Anzahl der Infektion erlagen, wie die unbehandelten Kontrolltiere.

Aus den experimentellen Untersuchungen über den Einfluß des Lactoflavins auf akute Infektionen resultiert somit folgendes Ergebnis: Weder durch geringe, noch durch große Zugaben von Lactoflavin zu einer sonst normalen Ernährung ist bei der Maus eine Veränderung im Verhalten gegenüber Infektionen zu erzielen. Es ist also durch ein Lactoflavinmehrangebot weder eine erhöhte, noch eine verminderte Infektionsabwehr zu erwarten, sei es durch Vorbehandlung, sei es durch Behandlung mit dem gelben Farbstoff.

Nachfolgende Tabelle möge den Verlauf des Tierversuches nach der intraperitoneal gesetzten Infektion mit Streptokokken noch einmal verdeutlichen.

	Vorbehandelte Tiere		Behandelte Tiere		Kontrollserie
Datum	Serie 1 Kleine Dosis	Serie 2 Große Dosis	Serie 3 Kleine Dosis	Serie 4 Große Dosis	Serie K_1
1. Tag	2 tot	2 tot			
2. Tag	3 tot	3 tot	3 tot	3 tot	4 tot
3. Tag	1 tot		4 tot	3 tot	2 tot
4. Tag		2 tot		1 tot	2 tot
5. Tag		2 tot	1 tot	1 tot	1 tot
6. Tag	2 tot	1 tot	1 tot		
7. Tag				1 tot	
10. Tag	1 tot				
18. Tag	1 tot				
20. Tag			1 Tier lebt!	1 tot	1 Tier lebt!

Analog den soeben beschriebenen Versuchen wurden an den restlichen 50 Mäusen Experimente über den Einfluß des Lactoflavins auf die Wundheilung angestellt. Die Tiere wurden wieder in Serien zu je zehn Stück eingeteilt; die Serien sind im Folgenden mit Serie 5, 6, 7, 8 und K_2 bezeichnet. Serie 5 wurde mit 0,1 γ Lactoflavintagesdosis je Tier, 0,1 ccm der Lösung B intramuskulär verabfolgt, vom 4. bis 13. 12. 1936 zehn Tage lang vorbehandelt. Die Gesamtlactoflavinmenge, die jede dieser Mäuse während der Vorbehandlung erhielt, betrug demnach 1 γ. Die zehn Tiere der Serie 6 erhielten jedes zehn Tage lang als Vorbehandlung 0,1 ccm der Lö-

sung A intramuskulär verabfolgt, also 10 γ Lactoflavin Tagesmenge. Die Gesamtmenge, die jede dieser Mäuse während der Vorbehandlung erhielt, betrug demnach 100 γ Lactoflavin. Die Tiere der Serie 7 wurden vom Tage nach der Wundsetzung an mit 0,1 γ Lactoflavin täglich behandelt. Die zehn Mäuse der Serie 8 erhielten von dem gleichen Zeitpunkt an jede 10 γ Lactoflavintagesdosis zugeführt. Als Kontrollserie ohne Lactoflavingaben liefen die zehn Tiere der Serie K_2 im Versuch mit. — Am 14. 12. 1936 wurden bei diesen fünfzig Mäusen in der bereits beschriebenen Weise die Wunden auf dem Rücken gesetzt.

Im Folgenden wird über den Verlauf der Wundheilung zu berichten sein: Am 4. Tage gingen von Serie 8 und K_2, am 6. Tag von Serie 6 je ein Tier zugrunde. Am 6. Tag wurde die erste Fotokontrolle durchgeführt. Sie ergab, ebenso wie die Betrachtung, eine etwa gleiche Heilungstendenz der Wunden aller Tiere. — Es muß gleich hier erwähnt werden, daß die Mäuse der Kontrollserie K_2 besonders klein und schwach waren; sie verschieben so infolge ihrer allgemein schlechten Konstitution das Bild scheinbar zu ihren Ungunsten! — Am 10. Tag ging von Serie K_2, am 14. Tag von Serie 6 je ein zweites Tier ein. Am 27. 12. 1936, also am 14. Tag, konnte bei je einem Tier der Serien 5, 6, 8 und K_2 eine Heilung der Wunde konstatiert werden. Am 16. Tag ging eine zweite Maus der Serie 8 zugrunde. Am 29. 12., also am 16. Tag, wurde eine erneute Fotokontrolle vorgenommen, die folgendes Bild ergab: Bei insgesamt drei Tieren der Serie 5, bei je zwei Mäusen der Serien 6, 7, 8 und K_2 war die Wundheilung abgeschlossen. Am 17. Tag ging von Serie 5 das erste, von Serie 8 und K_2 je ein drittes Tier ein. Am 31. 12., dem 18. Tag, waren bei Serie 5 die Wunden von insgesamt fünf Tieren verheilt, die restlichen vier zeigten noch keine gute Heilung. Die Serie 6 hatte vier Mäuse mit abgeschlossener Wundheilung, zwei mit guter und zwei mit mäßiger Heilungstendenz. Bei der Serie 7 war die Heilung von vier Tieren beendet, von drei Tieren gut, von den beiden restlichen mäßig fortgeschritten. In Serie 8 ergab sich, daß in fünf Fällen die Wundheilung abgeschlossen, in den zwei übrigen bevorstehend war. Die Kontrollserie K_2 bot folgendes Bild: Bei zwei normal kräftigen Tieren abgeschlossene Heilung der Wunden; bei den anderen fünf noch lebenden Mäusen neben dem schlechten Allgemeinzustand eine sehr mäßige Heilungstendenz. Am 20. Tag ging von Serie K_2 ein viertes Tier ein. Zu diesem Zeitpunkt, am 2. 1. 1937, waren bei der Serie 6 die Wunden zweier weiterer Mäuse geheilt, insgesamt jetzt bei sechs. Serie 7 zeigte ein Tier mehr mit abgeschlossener Wundheilung, zusammen demnach fünf. Bei Serie 8 war ebenso in einem weiteren Fall der Wundheilungsprozeß beendet; hier betrug die Gesamtzahl der geheilten Wundentiere sechs. Am 4. 1. 1937, am 22. Tage, war das Bild bei Serie 5 und K_2 unverändert. In Serie 6 war bei sieben Mäusen die Wundheilung beendet, bei einer bevorstehend. Serie 7 zeigte sieben geheilte Tiere, zwei

mit guter Heilungstendenz, eines in schlechtem Allgemeinzustand. Die Serie 8 war zu dieser Zeit, am 22. Tage, die erste Serie, bei der die Wundheilung von allen sieben noch lebenden Mäusen abgeschlossen war. Ihr folgte am 24. Tage die Serie 6, bei der die Wunden von acht noch lebenden Tieren geheilt waren. Von Serie 7 war zu diesem Zeitpunkt das erste Tier eingegangen; bei acht Mäusen war die Wundheilung abgeschlossen. In der Serie K_2 war das fünfte Tier verendet. Am 8. 1., dem 26. Tag, war bei Serie 5 in sieben Fällen die Heilung der Wunden beendet, in zweien noch ausstehend. Bei den neun noch lebenden Tieren der Serie 7 war die Heilung der gesetzten Wunden abgeschlossen. Am 29. Tag ging von Serie K_2 das sechste und siebente Tier ein. Am 12. 1., dem 30. Tage, waren die Wunden von neun noch lebenden Mäusen der Serie 5, sowie auch des dritten am Leben gebliebenen Tieres der Serie K_2 geheilt. — Fassen wir den Verlauf des Versuches noch einmal kurz zusammen: Wie bereits erwähnt, waren die Mäuse der Serie K_2 körperlich am schlechtesten entwickelt. Die Verschiebung zu Ungunsten dieser Serie ist also nur scheinbar und im Rahmen des biologischen Versuches nicht zu verwerten. Die Sterblichkeit betrug bei Serie 5 und 7 je ein, bei Serie 6 zwei, bei Serie 8 drei und bei Serie K_2 sieben Tiere bis zur Beendigung des Versuches. Die ersten Heilungen waren am 14. Tag, die letzten am 30. Tag zu beobachten. Am 18. Tag waren bei zwanzig Tieren die Wunden geheilt. Zieht man die Mortalität ungefähr mit in Rechnung, so kann man sagen, daß zu diesem Zeitpunkt rund die Hälfte der Mäuse abgeschlossene Wundheilung aufwies. — Im Durchschnitt, das ist zu konstatieren, war ein wesentlicher Unterschied zwischen den Tieren der einzelnen Serien nicht zu beobachten.

Im Ergebnis ist über den Einfluß des Lactoflavins auf die Wundheilung gemäß dem Verlauf der Tierversuche folgendes zu sagen: Auch hier ist vom Lactoflavin, genau wie bei den Infektionen, kein wesentlicher Einfluß zu sehen. Gleichviel, ob man die Vitamin B_2 Komponente in kleinen, oder in großen Dosen bei sonst normaler Ernährung Mäusen zugibt, gleichviel, ob man es in Form der Vorbehandlung, oder der Behandlung intramuskulär verabfolgt, ein Unterschied zur Norm ist nicht zu konstatieren. Was sich an Verschiedenheiten ergibt, das ist sicher im Rahmen der biologischen Breite liegend, die bei jedem Tierversuch in Rechnung zu stellen ist. Im Wesentlichen ist von einer erhöhten Lactoflavinzufuhr nach den beschriebenen Experimenten weder ein fördernder, noch ein hemmender Einfluß auf die Wundheilung festzustellen.

In nachfolgender Tabelle sind zur Verdeutlichung des Versuchsverlaufes die Termine des Exitus, in der Tabelle mit + bezeichnet, sowie die Zeitpunkte der Wundheilung der Mäuse, in der Tabelle mit H bezeichnet, noch einmal zusammengestellt.

Tier Nr.	Vorbehandelte Tiere		Behandelte Tiere		Kontrollserie
	Serie 5 Kleine Dosis	Serie 6 Große Dosis	Serie 7 Kleine Dosis	Serie 8 Große Dosis	Serie K_2
1	17. Tag +	6. Tag +	24. Tag +	4. Tag +	4. Tag +
2	14. Tag H	14. Tag +	16. Tag H	16. Tag +	10. Tag +
3	16. Tag H	14. Tag H	16. Tag H	17. Tag +	17. Tag +
4	16. Tag H	16. Tag H	18. Tag H	14. Tag H	20. Tag +
5	18. Tag H	18. Tag H	18. Tag H	16. Tag H	24. Tag +
6	18. Tag H	18. Tag H	20. Tag H	18. Tag H	29. Tag +
7	26. Tag H	20. Tag H	22. Tag H	18. Tag H	29. Tag +
8	26. Tag H	20. Tag H	22. Tag H	18. Tag H	14. Tag H
9	30. Tag H	22. Tag H	24. Tag H	20. Tag H	16. Tag H
10	30. Tag H	24. Tag H	26. Tag H	22. Tag H	30. Tag H

Nunmehr wird noch der Verlauf der Versuche über den Einfluß des Lactoflavins auf die Knochenregeneration zu besprechen sein. Die fünfzehn Kaninchen, die dazu zur Verfügung standen, wurden wieder in fünf Serien, diesmal zu je drei Stück, eingeteilt. Sie sind im Folgenden mit Serie 1, 2, 3 und 4, die Kontrollserie mit K bezeichnet. Serie 1 wurde vom 8. bis 19. Januar 1937 mit einer Lactoflavintagesdosis von 10 γ je Tier zwölf Tage lang vorbehandelt. Die Vitamin B_2 Komponente wurde in Form von 0,1 ccm der Lösung A intramuskulär verabfolgt. Insgesamt erhielt also jedes Kaninchen der Serie 1 im Verlauf der Vorbehandlung 120 γ Lactoflavin. Die Serie 2 wurde in der gleichen Zeit mit 100 γ Lactoflavin je Tier und Tag, jeweils 1 ccm der Lösung A, zwölf Tage lang vorbehandelt. Jedes Tier erhielt also während der Vorbehandlung eine Gesamtmenge von 1200 γ Lactoflavin. Die Kaninchen der Serie 3 erhielten vom Tage nach der Knochenresektion an jeweils 10 γ Lactoflavin täglich als Behandlung. Serie 4 wurde vom gleichen Zeitpunkt an mit einer Lactoflavintagesmenge von 100 γ pro Tier behandelt. Die Kaninchen der fünften Serie liefen ohne Lactoflavingaben als Kontrolltiere im Versuch mit. — Am 18. 1. 1937 ging ein Tier von Serie 1 ein. An die Stelle dieses Kaninchens wurde ein anderes gesetzt, das analog den Tieren von Serie 1 in gleicher Weise zwölf Tage vorbehandelt, dann operiert und in den entsprechenden Zeiträumen geröntgt wurde. Dieses Ersatztier, das

genau so wie die anderen Tiere der Serie 1 behandelt worden war, nur eben entsprechend später, wird im Folgenden der Einfachheit halber als Tier Nr. 1 der Serie 1 geführt und auf die für die anderen Tiere geltenden Termine umgerechnet.

Am 21. 1. 1937 wurde bei den Kaninchen der fünf Serien die Knochenresektion in der Weise vorgenommen, wie sie bereits vorher beschrieben ist. Zehn Tage nach der Operation wurde die erste Röntgenkontrolle durchgeführt, die folgendes Ergebnis hatte: Von Serie 1 zeigte Tier 1 mäßig viel, Tier 2 etwas, Tier 3 mäßig viel Callus. Bei Serie 2 stellte sich von Tier 1 heraus, daß nicht nur der Radius den künstlich gesetzten Knochendefekt aufwies, sondern, daß auch die Ulna gebrochen war. Und zwar sah man im Röntgenbild eine längs verlaufende Fraktur mit starker Dislokation der Fragmente. Dieses Kaninchen ist damit für die Bewertung im Versuch ausgeschieden. Bei Tier 2 von Serie 2 hatte sich etwas, bei Tier 3 mäßig viel Callus gebildet. Die drei Kaninchen der Serie 3 wiesen alle etwas Callusbildung an der Knochenresektionsstelle auf. In Serie 4 zeigte im Röntgenbild Tier 1 guten, Tier 2 mäßig viel, Tier 3 etwas Callus. Bei den drei Kaninchen der Kontrollserie K war bei allen etwas Callusbildung an der Resektionsstelle sichtbar. — Die zweite Röntgenkontrolle wurde nach einundzwanzig Tagen vorgenommen. Bei Serie 1 zeigte Tier 1 sehr gute, Tier 2 mäßig viel, Tier 3 gute Callusbildung. In Serie 2 war der Callus bei Tier 2 gut, bei Tier 3 sehr gut gebildet. Von Serie 3 wies Tier 1 sehr guten, Tier 2 und 3 mäßig viel Callus auf. Bei Serie 4 war im Bild von Tier 1 sehr guter, im Bild von Tier 2 guter, in dem von Tier 3 mäßig viel Callus sichtbar. Die drei Kaninchen der Serie K wiesen alle gute Callusbildung auf. — Nach zweiunddreißig Tagen wurde die dritte Röntgenuntersuchung vorgenommen. Tier 1 von Serie 1 wies eine vollendete Consolidation der Resektionsstelle auf. Tier 2 zeigte guten, Tier 3 sehr guten Callus. In Serie 2 ließ Tier 2 eine sehr gute Callusbildung, Tier 3 eine abgeschlossene Regeneration des ausgesägten Knochenstückes erkennen. Tier 1 von Serie 3 zeigte vollendete Consolidation; bei Tier 2 und 3 hatte sich guter Callus gebildet. In Serie 4 erwies sich die Knochenregeneration bei Tier 1 als vollzogen; Tier 2 hatte sehr guten, Tier 3 guten Callus. Die Tiere 1 und 3 der Serie K ließen sehr guten Callus im Bild erkennen. Bei Tier 2 war die Consolidation beendet. — Die vierte Röntgenkontrolle wurde nach dreiundvierzig Tagen vorgenommen. Die Regeneration des resezierten Knochenstückes erwies sich bei der Betrachtung der Röntgenbilder der übrigen Tiere als beendet. Und zwar waren das von Serie 1 Tier 2 und 3, von Serie 2 Tier 2, von Serie 3 Tier 2 und 3, von Serie 4 Tier 2 und 3, sowie von der Kontrollserie K Tier 1 und 3.

Fassen wir den Verlauf des Versuches noch einmal kurz zusammen, so ist zu sagen, daß grundsätzlich große Unterschiede auch hierbei nicht bestehen. Je ein Kaninchen der fünf Serien wies nach zweiunddreißig Tagen eine Regeneration des resezierten Kno-

chenstückes auf. Die restlichen Tiere, von Serie 2 eines, von den übrigen Serien jeweils zwei, zeigten nach dreiundvierzig Tagen vollendete Consolidation der künstlich gesetzten Knochendefekte. Die Unterschiede im Heilungsprozeß zwischen den einzelnen Kaninchen sind bestimmt nur Ausdruck der biologisch verschiedenen Veranlagung. Denn gerade im letzten Versuch betreffen die Verschiedenheiten in auffallend gleicher Weise die — jeweils mit kleiner, oder mit großer Dosis — vorbehandelten und behandelten Tiere, sowie auch die Kontrolltiere.

Als Ergebnis resultiert aus diesen Versuchen an Kaninchen über den Einfluß des Lactoflavins auf die Knochenregeneration folgendes: Das Lactoflavin in kleinen, oder in großen Dosen als Vorbehandlung, beziehentlich als Behandlung zu einer sonst normalen Ernährung zugegeben, weist bei Kaninchen keinen Unterschied in der Knochenregeneration gegenüber Kontrolltieren ohne Lactoflavingaben auf. Es ist also von einem Lactoflavinüberangebot weder eine hemmende, noch eine fördernde Wirkung auf die Knochenregeneration festzustellen.

Die nachfolgende Tabelle möge noch einmal einen Ueberblick über den Verlauf der Röntgenuntersuchungen geben. Der Grad der Callusbildung bei den einzelnen Tieren ist dabei durch Kreuze (+), die abgeschlossene Regeneration durch einen Kreis (0) angedeutet.

Röntgenuntersuchung nach:	Vorbehandelte Tiere						Behandelte Tiere						Kontrollserie		
	Serie 1 Kleine Dosis			Serie 2 Große Dosis			Serie 3 Kleine Dosis			Serie 4 Große Dosis			Serie K		
	Tier Nr.			Tier Nr.			Tier Nr.			Tier Nr.			Tier Nr.		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
10 Tagen	+ +	+	+ +		+	+ +	+	+	+	+ + +	+ +	+	+	+	+
21 Tagen	+ + + +	+ +	+ + +	Fällt aus!	+ + +	+ + + +	+ + + +	+ +	+ +	+ + + +	+ + +	+ +	+ + +	+ +	+ + +
32 Tagen	0	+ + +	+ + + +		+ + + +	0	0	+ + +	+ + +	0	+ + + +	+ + +	+ + + +	0	+ + + +
43 Tagen		0	0		0			0	0		0	0	0		0

Fassen wir das Ergebnis der Arbeit in einer Schlußbetrachtung zusammen: Die Bedeutung des Lactoflavins erhellt aus der Tatsache, daß es im gelben Oxydationsferment hochmolekular gebunden vorkommt. Der tierische Organismus ist zur Synthese des Lactoflavins

nicht befähigt; er ist also auf die Zufuhr von außen angewiesen. Der mit der Nahrung zugeführte gelbe Farbstoff wird wahrscheinlich im Dünndarm phosphoryliert und als Phosphorsäureester resorbiert. Am Bestimmungsort findet dann die Koppelung mit einem Eiweißkörper statt, es wird das gelbe Oxydationsferment gebildet. Die Wirkung dieses Fermentes tritt erst nach Vereinigung der beiden Komponenten ein. Das Eiweiß, oder der Lactoflavinphosphorsäureester vermögen für sich allein keine fermentative Wirkung zu erzeugen. Daraus ergibt sich die grundlegende Bedeutung des Lactoflavins, das als Phosphorsäureester im gelben Oxydationsferment ein wesentlicher Bestandteil jeder tierischen Zelle ist. Es ist also zur Erhaltung des Organismus das Lactoflavin notwendig. Wird dem Körper von dieser Vitamin B_2 Komponente mehr zugeführt, als zur Fermentbildung notwendig ist, so zeigt er zunächst ein Speicherungsvermögen. In Leber, Niere und Herz wird besonders viel von dem gelben Farbstoff gespeichert. Darüber hinaus aber wird das überflüssige Lactoflavin im Harn und Kot ausgeschieden. Daraus ergibt sich, daß man etwaige Krankheitserscheinungen einer B_2 Hypervitaminose nicht beobachten konnte und auch nicht zu erwarten hat. Ein Mangel an Lactoflavin hingegen muß auf die Dauer krankhafte Erscheinungen erzeugen, wenn auch zunächst der Organismus durch Retention des Farbstoffes und Drosselung seiner Ausscheidung einen Ausgleich herzustellen sucht. Wachstumstillstand, Hautveränderungen, Erkrankung des Zentralnervensystems, Störungen des Kohlehydratstoffwechsels und Veränderungen des Verdauungstraktes sind die Zeichen des Vitamin B_2 Mangels, die im ersten Teil der Arbeit bereits genauer beschrieben wurden. In neuesten Untersuchungen konnten Lauber und Jehn zeigen, daß B_2 frei ernährte Ratten im Laufe der dritten Woche einer Spontaninfektion erlagen, wohingegen normal ernährte Kontrolltiere am Leben blieben. Das weist, neben den bereits früher erwähnten Experimenten auch anderer Autoren, auf die wichtige Rolle des Lactoflavinmangels für Infektionen hin.

Aufgabe der eigenen Untersuchungen war es nun, zu prüfen, ob ein vermehrtes Angebot an Lactoflavin, bei sonst normaler Ernährung parenteral verabfolgt, einen Einfluß auf Infektion, Wundheilung und Knochenregeneration ausübt. Die Tierversuche zeigen, daß das verneint werden muß. Das verabfolgte Lactoflavinmehrangebot hatte weder in kleinen, noch in großen Dosen einen fördernden, oder auch einen hemmenden Einfluß auf die mit Streptokokken gesetzte akute Infektion, auf die Heilung der gesetzten Wunden und die Regeneration der resezierten Knochenstücke. Eine hemmende Wirkung des Lactoflavins war ja bei dem erwähnten Regulierungsvermögen des Organismus auch nicht zu erwarten. Das Ausbleiben einer fördernden Wirkung der B_2 Komponente auf die Heilung der erzeugten Krankheitszustände läßt wohl den Schluß zu, daß ein vermehrter Bedarf an Lactoflavin hierbei nicht besteht.

Für die Klinik resultiert daraus, daß für eine genügende Ver-

sorgung des Organismus mit Vitamin B_2 wohl stets Sorge getragen werden muß, um eine Hypovitaminose mit ihren Erscheinungen zu verhindern. Gerade gegenüber einer Infektion hat sich ja das B_2 avitaminotische Tier als besonders abwehrschwach erwiesen. Jedoch ist von einem Mehrangebot der Vitamin B_2 Komponente bei sonst ausreichender Ernährung eine günstige Wirkung auf akute Infektionen und Regeneration nicht zu erwarten.

Herrn Dr. med. habil. Lauber möchte ich für Ueberlassung des Themas und freundliche Anleitung bei Anfertigung der Arbeit meinen ergebensten Dank aussprechen.

Schrifttum.

1. Bieling: „Unterernährung und Infektion.“ Dtsch. med. Wschr. 1927. 5. 182 und 6. 228.
2. Holsen: „Tierexperimentelle Untersuchungen über den Einfluß der Verabreichung von Vitaminpräparaten auf die bakterizide Kraft des Blutes.“ Zschr. f. Vitaminforschg. 1932. 1. 3.
3. Jusatz und Wenzel: „Ueber das synergetische Verhalten der Vitamine B und D und ihre gemeinsame Einwirkung auf den Blutchemismus.“ Klin. Wschr. 1934. 1082.
4. Jusatz: „Vitamine und Infektionen.“ Aerztl. Rundschau 1934. 22. 335.
5. Pfannenstiel: „Die Bedeutung der Vitamine für die Infektionsabwehr.“ Med. Welt 1937. 8. 231.
6. Lauber: „Die Beeinflussung akuter Infektionen durch Vitamine.“ Bruns Beiträge 1933. 158. 633.
7. Lauber: „Experimentelle Untersuchungen über die Beziehung der Vitamine zur Infektion.“ Bruns Beiträge 1936. 164. 365.
8. Lauber: „Vitamine als Heilmittel in der Chirurgie.“ Med. Welt 1936. 8. 255.
9. Schotte: „Die therapeutische Beeinflussung der Knochenregeneration.“ Dtsch. med. Wschr. 1931. 20. 849.
10. Ellinger und Koschara: „Ueber eine Gruppe tierischer Farbstoffe (Lyochrome).“ Ber. dtsch. chem. Ges. 1933. 66. 315.
11. Kuhn, György und Wagner-Jauregg: „Ueber eine neue Klasse von Naturfarbstoffen.“ Ber. dtsch. chem. Ges. 1933. 66. 317.
12. — — „Ueber Lactoflavin, den Farbstoff der Molke.“ Ber. dtsch. chem. Ges. 1933. 66. 1034.
13. Auhagen: „Lactoflavin, eine Komponente des Vitamins B_2.“ Medizin und Chemie Bd. 3. S. 151.
14. Kuhn, Rudy und Wagner-Jauregg: „Ueber das Lactoflavin (Vitamin B_2).“ Ber. dtsch. chem. Ges. 1933. 66. 1950.
15. György, Kuhn und Wagner-Jauregg: „Ueber das Vitamin B_2.“ Klin. Wschr. 1933. 2. 1241.
16. Kuhn und Wagner-Jauregg: „Lactoflavin (Vitamin B_2) aus Leber.“ Ber. dtsch. chem. Ges. 1934. 67. 1770.
17. Silberschmidt: „Lactoflavin. B_2 Zuwachsfaktor.“ Praxis. Schweiz. Rundschau f. Medizin 1936. Nr. 12.
18. Kuhn und Weygand: „Synthetisches Vitamin B_2.“ Ber. dtsch. chem. Ges. 1934. 67. 2084.

19. Vivanco: „Zur Kenntnis der Flavinbilanz im tierischen Organismus.“ Zschr. f. Vitaminforschg. 1936. 5. 141.
20. v. Drigalski: „Untersuchungen über B_2 Avitaminose und Pellagra an der Ratte, sowie grundsätzliche Fragen bei biologischen Vitaminversuchen.“ Zschr. f. Vitaminforschg. 1935. 4. 177.
21. Klemola und Hohlweg: „Ueber Vitaminmangel und Keratinisierungserscheinungen.“ Zschr. f. Vitaminforschg. 1933. 2. 249.
22. Abels: „Therapeutische Beziehungen von pellagraartigen Nervenstörungen.“ Wien. med. Wschr. 1931. 1251.
23. Rolnik: „Zur Klinik, Aethiologie und Pathogenese pellagröser Erkrankungen.“ Klin. Med. 1934. 12. 782.
24. Zimmermann und Burack: Laesionen des Zentralnervensystems, verursacht durch Vitamin B_2 Mangel.“ Zschr. f. Vitaminforschg. 1933. 2. 212.
25. Gowgill, Zimmermann und Burack: „Untersuchungen über B_2 Mangel an Hunden.“ Zschr. f. Vitaminforschg. 1936. 5. 141.
26. György: „Untersuchungen über den Vitamin B_2 Komplex. I. Abgrenzung des Lactoflavins gegen den „Antipellagrafaktor“ bei Ratten.“ Biochem. J. 1935. 29. 741.
27. Birch, György und Harris: „Der Vitamin B_2 Komplex. Abtrennung des die „Schwarzzunge“ verhütenden und des P. P. Faktors von Lactoflavin und Vitamin B_6 (dem sogenannten Rattenpellagrafaktor).“ Biochem. J. 1935. 29. 2830.
28. Collazo und Pi-Suner-Bayo: „Einfluß des Vitamins B_2 auf den Kohlehydratstoffwechsel.“ Biochem. Zschr. 1932. 89. 250.
29. Stepp: „Altes und Neues in der Therapie des Diabetes mellitus.“ M. m. Wschr. 1935. 33. 1308.
30. — — „Ueber den Vitaminmangel als Ursache und Folge von Magendarmerkrankungen.“ Med. Welt 1936. 33. 1379.
31. Kagawa: „Ueber Rhagadenbildung am Mundwinkel bei der B Avitaminose.“ Mitt. Med. Ges. Tokio 1932. 46. 40.
32. Day, Langston und O'Brien: „Katarakt und andere Augenveränderungen bei Vitamin G Mangel.“ Zschr. f. Vitaminforschg. 1932. 1. 222.
33. Basu: „Vitamin B_2 Mangel als aetiologischer Faktor bei der Lepra.“ Zschr. f. Vitaminforschg. 1934. 3. 195.
34. Anselmino: „Gynaekologie und Vitamine.“ Dtsch. med. Wschr. 1934. 567.
35. Frank: „Vitamine und Infektionen.“ Zschr. f. Vitaminforschg. 1932. 1. 51.
36. Roß und Robertson: „Die Wirkung des Vitamin B Komplexes auf die Resistenz der Ratten gegenüber enteraler Infektion mit Salmonella muriotitis enteritidis.“ Zschr. f. Vitaminforschg. 1933. 2. 224.

37. Lassen: „Die Bedeutung der Vitamine für den Verlauf von Infektionen.“ Zschr. f. Immunforschg. 1932. 73. 221.
38. Reiner und Paton: „Eine scheinbar erhöhte Resistenz von Vitamin B frei ernährten Ratten gegenüber einer akuten Infektion.“ Zschr. f. Vitaminforschg. 1933. 2. 305.
39. Rominger: „Vitamine und Infektionsabwehr.“ M. m. Wschr. 1935. 1551.

Lebenslauf.

Ich, Hans, Hugo, Felix Bender, wurde am 1. Dezember 1913 als Sohn des Kaufmanns Fritz Bender und seiner Ehefrau Minna, geb. Stamer in Rüsselsheim/Main geboren. Von Ostern 1920 bis Ostern 1922 besuchte ich die Volksschule in Rüsselsheim, dann bis Ostern 1923 die Privatschule Görz in Mainz/Rhein. Von Ostern 1923 bis 1932 war ich Schüler des Gymnasiums zu Mainz. Dort legte ich am 15. Februar 1932 die Reifeprüfung ab. Vom Sommer-Semester 1932 bis einschließlich Sommer-Semester 1934 war ich als Student der Medizin an der Universität Marburg eingeschrieben. Am 27. Oktober 1934 legte ich vor dem Prüfungsausschuß in Marburg die ärztliche Vorprüfung mit dem Gesamturteil genügend ab. Im Winter-Semester 1934/35 studierte ich in München. Das Sommer-Semester 1935 verbrachte ich als Ostsemester an der Unisität Königsberg. Vom Winter-Semester 1935/36 ab war ich dann bis zur Beendigung meines Studiums wieder an der Universität Marburg. Mein Medizinisches Staatsexamen bestand ich am 10. Dezember 1937 mit dem Gesamturteil gut.

Meine akademischen Lehrer waren:

in Marburg: Alverdes, Claußen, Dittler, Göppert, Grüneisen, Jaeck †, Jakobshagen, Kutscher, Meerwein, Nauck, Strecker.

in München: Borst, Eymer, von Seemen, Stepp, von Zumbusch.

in Königsberg: Aßmann, Bürgers, Krauspe, Läwen, Stoeltzner, Zipf.

in Marburg: Baumann, Baur †, Becher, Boeminghaus, Enke, Freudenberg, Grüter, Habs, Jahrmärker, Kehrer, Klapp, Klewitz, Kretschmer, Loebell, Mauz, Neumann, Pfannenstiel, Rix, Schrader, Schwenkenbecher, Uffenorde, Versé.